

④ 公開特許公報(A) 平2-78635

⑦ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑧ 公開 平成2年(1990)3月19日

A 61 K 39/395

W

8829-4C

審査請求 有 請求項の数 14 (全9頁)

⑨ 発明の名称 1 g Mを含有する静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物およびその調製法

⑩ 特 願 平1-192814

⑪ 出 願 平1(1989)7月27日

(優先権主張 ⑫ 1988年7月27日 ⑬ 西ドイツ(DE) ⑭ P3825429.8

⑮ 発 明 者 ウォルフガング メラ ドイツ連邦共和国 デー - 6370 オーベルウルセル グ
ー ラーフフォン・スタウフエンベルクストラーセ 32

⑯ 出 願 人 ビオテスト ファルマ ドイツ連邦共和国 デー - 6072 ドライアイヒランドスタ
ゲゼルシャフト ミ イナーストラーセ 5
ツト ベシユレンク
ー ハフツング

⑰ 代 理 人 弁理士 北村 欣一 外3名
最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

1 g Mを含有する静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物およびその調製法

2. 特許請求の範囲

i. バクテリアの感染の処置および予防のための静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物であって、

イ) 免疫グロブリンの瞬間の合計含量に基づいて少なくとも50重量%の1 g Mを含有し、

ロ) 低い抗補体活性を示し、

ハ) 水溶液中で安定であり、

ニ) ウイルスを含有しない、

ことを特徴とする静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物。

ii. いく種類かのモノクローナル1 g M抗体の混合物から成ることを特徴とする、上記第1項記載の免疫グロブリン調製物。

3. また、1種または2種以上の免疫グロブリン抗体を含有することを特徴とする、上記第1ま

たは2項記載の免疫グロブリン調製物。

4. また、追加のタンパク質、好ましくはヒトアルブミン、糖、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を含有することを特徴とする、上記第1～3項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物。

5. 1～20 g/100 ml、好ましくは3～5 g/100 mlのタンパク質濃度をもつ溶液の形態であることを特徴とする、上記第1～4項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物。

6. ヒト、動物、またはバクテリア起源の免疫グロブリン含有血漿分画から分離することを経験とする、上記第1～5項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物を調製する方法。

7. 免疫グロブリン含有分画をアニオン交換体で処理し、これを生理的塩濃度またはpH勾配で溶離し、溶出液をゲル濾過し、アニオン交換クロマトグラフィーまたはゲル濾過の前または後に、ジエチルエタノールおよびPEG400で処理し、そして必要に応じて加熱することを特徴とする、

上記第6項記載の方法。

8. アニオン交換体は、DEAE-トリシアクリル (Trisacryl) -LS、QA-トリシアクリル (Trisacryl) またはQHA-アタセル (Accell) であることを特徴とする、上記第7項記載の方法。

9. ゲル濾過のためのゲルはセファクリル (Sephacryl) S40BHR または S30BHR であることを特徴とする、上記第7または8項記載の方法。

10. 調製物を、アニオン交換クロマトグラフィーまたはゲル濾過の前または後に、 β -プロピオラクトンで、あるいは β -プロピオラクトンおよび炭酸塩で、および0~13℃、好ましくは5℃、およびpH 4.5~5.5において3%のPEG400で、処理することを特徴とする、上記第7~9項のいずれかに記載の方法。

11. 加熱を0.5~5時間、40~80℃において、好ましくは1時間、57℃において実施することを特徴とする、上記第7~10項のいずれかに記載の方法。

12. 調製物を、ゲル濾過の前または後に、溶媒お

よび洗浄剤、好ましくはトリ- α -ブチルホスフェートおよびツイーン (Tweens) 80で処理することを特徴とする、上記第7~11項のいずれかに記載の方法。

13. 調製物を、ゲル濾過の前または後に、低温乾燥することを特徴とする、上記第7~11項のいずれかに記載の方法。

14. タンパク質、好ましくはヒトアルブミン、鶏、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を調製物に添加することを特徴とする、上記第7~11項のいずれかに記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

(従来の技術並びに発明が解決しようとする課題)

免疫グロブリンは、ヒトにおける感染を防御するうえで重要な役割を演ずる。免疫グロブリンは均一な物質でなく、そして種々の生化学的および生化学的性質をもつ種々のクラスに割り当てることができる。ウイルス因子に対する防御に参加するのは本質的にIgGであるが、IgM抗体は好ましくはバクテリアの感染を排除する。

そのペンタマーの構造のために、IgMはバクテリアの凝集にことに適する。それは、また、IgGより100~400倍補体を活性化し、そしてモノマーのIgGの100倍のバクテリアに対するオプソニン作用を有する。

IgMを含有するタンパク質の投与は、バクテリアの感染に対して特に有効である。免疫グロブリン調製物は、広い範囲の病気の処置および予防に臨床的に30年間有効に使用されてきている。しかしながら、これらの物質は際だって厳格なIgMの調製物であり、微量のIgAおよびIgMを含有することがある。最初の調製物は筋肉内にのみ適合性であったが、静脈内IgG調製物は、また、29年以上にもわたり入手可能である。抗補体活性を減少する方法、それゆえ静脈内適合性を促進する方法における工程は、[Schultz, H.R.およびSchwartz, G., *Dietsch.med.Wochenschr.* 87(1962), 1642; Barnardus, S. et al., *Vox Sang.* 26 (1957), 157; Barnardus, S. et al., *Vox Sang.* 7 (1962), 187; Staphan,

Y., *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1(1985), 2822.]に記載されている。

これらの方法のすべては1985年までIgGに限定され、最初であって現在まで、静脈内に適合性のIgG調製物 [ペンタグロビン (Pentaglobin) (1*)] の例のみが欧州特許 (EP) 13 901号に記載された。この免疫グロブリン調製物は、0.45~0.15%の β -プロピオラクトンで処理されて静脈内適合性とされ、18%のIgMに加えて、80%のIgGおよび10%のIgAを含有する。

他の免疫グロブリン調製物、例えば、フィンランド国特許836 831号およびドイツ国特許2 454 265号に記載されているものは、IgMが20~80%に濃縮されているが、静脈内適合性ではない。

バン・デル・ホフフェン (Van der Hofen)、*Immunochimistry* 10(1973), 167-181に記載されているもののような免疫学的に純粋なIgM調製物は、高い抗補体活性をもつために、静脈内投与に適さず、したがってバクテリアの感染を効

量するためにこれまで利用されてきていない。

20%以上のIgMを含有する調製物の投与のこれまでの唯一の道筋は筋肉内であった。この方法は非常に痛いばかりでなく、かつまたより多い量のIgMを投与するために使用することができず、IgMの血液中の濃度は有意に高くならない。

本発明の目的は、バクテリアの感染の処置および予防において静脈内投与に適当な、高い純粋のIgM濃縮物を利用可能とすることである。
(課題を解決するための手段並びに作用、効果)

この目的は、全体の免疫グロブリン含量に基づいて少なくとも50重量%のIgMを含有し、低い抗補体活性を有し、そして水溶液において安定でありかつウィルスを含持しない免疫グロブリン調製物を使用して達成される。このタイプの調製物は、ヒト、動物、またはバクテリア起源の血漿または他の源から、イオン交換体で処理し、生理的塩類溶液の勾配またはpHの勾配で交換体を溶離し、そしてゲルで分離し、ここで

適合性であることが発見された。この結果は、90%のIgGおよびIgAとともに安定化される、わずかにほぼ10%のIgM溶液に関する欧州特許13 981号中の情報からできえ、予測することができなかった。

本発明による抗バクテリア効果は、欧州特許13 981号に記載される10% IgM調製物のそれと、動物試験において比較した。驚くべきことには、本発明による調製物の効果は、そのIgMの含量から予測できるものよりも高かった。IgM濃縮物の抗バクテリア効果はIgGおよびIgAの濃度を減少することによって増加できるということは、完全に予測されなかった。換言すると、IgMの比濃度は、できるだけIgGおよびIgAがほとんど存在しないとき、とくに有効である。

このタイプの効果は、現在の技術水準において調製されるIgMでは達成することができない。なぜなら、筋肉内に投与するためには少なすぎるか、あるいはIgGおよびIgAの比率が高すぎるからである。

β-プロピオラクトンで処理し、PEG4000で沈殿させ、そして必要に応じて、クロマトグラフィーの前または後に、加熱することによって調製することができる。これらの手順に引き続いて、それら自体凝縮の手配、例えば、β-プロピオラクトンおよび紫外線による処理、あるいは溶媒および洗浄剤による処理を実施することができ、これらは、また、緩衝の機能を満足する。

また、いくつかのIgM抗体の混合物から調製物を調製するか、あるいは、ちょうど上に述べた方法により調製された調製物に1種または2種以上の抗体を添加することができる。

IgMの濃縮物は好ましくは少なくとも50%である。注射可能な調製物は、1~20g/100ml、好ましくは3~5g/100mlの本発明による調製物を含有する溶液である。

驚くべきことには、本発明の方法により調製されかつ50%より多いIgMを含有する調製物の抗補体活性は非常に低いので、調製物は経静脈

本発明による調製物の調製方法を下に説明する。

IgMを含有する分画、好ましくはコーン(Cohn)アルコール分画により得られるコーン分画II1、あるいは血液からのIgGのクロマトグラフィーの分離の間に生ずるIgM分画を、1~5%、好ましくは2.5%のカプリル酸で沈殿させる。IgMを含有する凝縮物をアニオン交換体、例えば、DEAE、QAEまたはQHAの系にpH8.5~1.5において適用する。IgM分画は結合するようになり、そして生理的塩類溶液の勾配またはpHの勾配で溶離する。限外濾過による濃縮後、IgM溶出液をIgM溶液の100 ml当り0.05~5 mlのβ-プロピオラクトンで処理する。この反応は好ましくは20~37℃およびpH7.0~8.0、好ましくは8.0において1~10時間、β-プロピオラクトンが完全に消費されるまで、実施する。抗補体活性をさらに低下させるため、IgM溶液を1~3%のPEG 4000、好ましくは2.5% PEG 4000で0~10℃、好ましくは5℃、pH4.5~5

において処理し、そして沈澱を遠心分離する。

初期の抗補体活性が非常に高い場合、IgM 溶液は必要に応じて、また、40～60℃、好ましくは57℃に0.5～4時間、好ましくは1時間加熱することができる。

この処理に引き続いて、凝縮物は全体の免疫グロブリンに基づいて50%以上の純度のIgMであろう。さらに精製するため、この溶液を500000D以上の排除限界をもつゲルクロマトグラフィー材料、例えばセファクリル(Sephacryl)S400RHまたはS800RHまたはセファローズ(Sephadex)GL55のクロマトグラフィーにかけることができる。抗補体活性を減少するための手段は、また、事なる順序で実施することができる。β-プロピオラクトンを使用する処理は、例えば、排除クロマトグラフィー後のアニオン交換クロマトグラフィーおよび加熱の際に実施することができる。あるいは加熱はβ-プロピオラクトンによる処理およびPEG4000による沈澱の前に実施することができる。

7℃において沈澱し、そして遠心した。次いで、残留物をセファクリル(Sephacryl)S400RHの20gのカラムでクロマトグラフィーにかけた。第2分画はIgMを含有し、これを限外ろ過し、そしてろ過滅菌した。IgMの含量は85%であり、5%のIgGおよび9%のIgAを含有した。

実施例2

10gのヒト血漿から得られたプールを4℃において溶解し、そして低温沈澱を分離した。PPSE因子をDE2セファデックス(Sephadex)で除去し、そしてフィブリノーゲンを含9%のエタノールによる沈澱によりpH5.5において除去した。残留する血漿を22ミリのトロメタミン/BCIのイオン性凝縮にpH7.5において調製した。クロマトグラフィーを同一緩衝液で平衡化したDEAE-トリシアクリル(Trisacryl)-LSの10gのカラムで実施した。保持されたIgMを0.3モルの炭酸ナトリウムでpH7.8において溶解した。溶出液を25%のエタノールで3℃およびpH7.5において沈澱させ、そして沈澱を0.1モルの酢

IgM 分画を凍め、既知の方法で加工し、そしてろ過滅菌する。

(実施例)

本発明による調製方法を、次の実施例を参照して詳述する。

実施例1

1kgのコーンのパーストIIIを5gの0.1モルの酢酸塩緩衝液、pH5.5、中に溶解し、そして2.5%のカプリル酸で25℃において処理した。沈澱を4時間後遠心し、そして残留物を0.025モルのトロメタミンに対してpH5.5において過剰した。この溶液を次いで同じ緩衝液中にQAE-トリシアクリル(Trisacryl)-LSを備えた9gのカラムに加えた。IgMを吸着剤により保持し、そして0.3モルの塩化ナトリウムで溶解した。溶出液を40g/gのタンパク質含量に濃縮し、57℃に1時間加熱し、そして0.1%のβ-プロピオラクトンで25℃およびpH5.5において一夜処理した。次いで、この溶液を2.5g/100mlのPEG4000でpH4.5において処理し、1時間、4

炭酸緩衝液中にpH5において50g/gのタンパク質濃度に溶解した。この溶液を2.5%のカプリル酸で25℃およびpH5において処理し、そして沈澱を分離した。残留物を0.11%のβ-プロピオラクトンで5時間、20℃およびpH7において処理し、1時間、4℃において2.5g/100mlのPEG4000で沈澱させ、そして遠心した。残留物をセファクリル(Sephacryl)S400RHの20gのカラムで3回クロマトグラフィーにかけた。第2分画を限外ろ過し、そしてろ過滅菌した。この分画はIgMを93%の純度で含有し、そして2%のIgGおよび5%のIgAを含有した。全体の免疫グロブリン含量は100%であった。

実施例3

1kgのコーンのパーストIIIを実施例1に記載するようにカプリル酸で沈澱させ、そして残留物を0.025モルのトロメタミンに対してpH7.8において過剰した。

IgMを吸着剤により保持し、1回カラムを0.05モルの酢酸ナトリウムでpH4.5において洗

浄した後、溶離した。溶出液をP804900 およびβ-プロピオラクトンで表施例1に記載するように処理した。残渣物をセファデックス(Sephadex)G25 の2本のカラムで再度緩衝化し、限界析出し、そして通過減菌した。

IgM 含量は13%であり、28%のIgA および7%のIgG であった。合計の免疫グロブリン含量は100%であった。

β-プロピオラクトンの処理は、β-プロピオラクトンおよび紫外線を適用するか、あるいは洗浄剤および界面活性剤、好ましくはトリートメントホスフェートおよび Tween 80 を使用する温度によるか、あるいは低温殺菌により達成することができる。この処理に引き続いて、加熱と同様に、また、ゲル析出を実施することができる。

タンパク質、好ましくはヒトアルブミン、糖、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を、また、調製物に添加することができる。

本発明により調製されたIgM 濃縮物を、その

出発材料、IgD、IgA およびIgM を含有する商業的に入手可能なペンタグロビン(Pentaglobin) (K*) と、および同一出発材料から調製したIgG 分画と比較した。結果は次の通りである。

1、免疫調整物の特性づけ

免疫グロブリンIgD、IgA、およびIgM を抗原を使用して比率的に決定した。全体のタンパク質含量は、ビウレット(Biuret)法により決定した。個々の試験調製物についてのデータを表1に要約する。

表 1

No.	調製物	タンパク質 (g/l)	IgD IgA IgM (mg/100ml)		
			IgD	IgA	IgM
1	ペンタグロビン	61.6	3740	928	750
2	IgG 分画	48.6	3770	480	70
3	IgM 濃縮物	8.1	40	70	150

2、動物試験

本発明によるIgM 濃縮物の抗バクテリア効果

したがって、本発明によるIgM 濃縮物(調製物3)は、そのタンパク質濃縮物が1/8 のみであってさえ、調製物1および2のそれらより有意に強力であり、予防作用を有する。

3、抗補体活性(ACA)の決定

抗補体活性は、カバット(Kabat) およびメイヤー(Mayer) の方法(Mayer, H.M., 補体および補体の固定(Complement and Complement fixation), Kabat, E.A. および Mayer, H.M., 実験免疫化学(Experimental immunology), 第2版, Springfield, Ill., 1964, Thomas Book 133-240)により、豚尿内適合性の尺度として、決定した。表3は、本発明によるIgM 濃縮物のそれと比較して、商業的に入手可能な調製物を使用して得られた結果を要約する。すべての濃度は5%であった。

表 3

No.	調製物	IgM(%)	ACA(1:10/4 タンパク質)	
			IgG	IgM
1	ペンタグロビン	0	10	10
2	IgG 分画	10	10	10
3	IgM 濃縮物 (本発明)	15	10	25

(調製物3)を、シュードモナス(Pseudomonas) [Stephan, V. および Bichtelmaier, H., 静脈内使用のための2つのIg免疫グロブリン調製物の生体外挙動および生体内効能の比較(Comparison of in vitro behaviour and in vivo efficacy of two Ig immunoglobulin preparations for intravenous use), Arzneimittel Forschung/Drug Res. 33(11)(1983), 11, 1538-40] で感染したマウスにおいて、ペンタグロビン(Pentaglobin) (K*) (調製物1) およびIgG 分画(調製物2)のそれらと比較した。表2は生存率を示す。

表 2

マウス予防試験の結果	
No.	調製物
1	ペンタグロビン
2	IgG 分画
3	IgM 濃縮物(本発明)
4	未処理

感染後24時間生存するマウス	
47.8	
33.3	
66.7	
9.5	

4. ウイルス不活性化の試験

本発明によるIgM濃縮物を、 $\Phi \times 174$ 型バクテリオファージおよびセンダイ(Sendai)ウイルスで処理した。減菌を β -プロピオラクトン [Prince, A.M., Horowitz, B., Dichtelmaier, H., Stephan, V., および Gail, R.C., HT 1-11] の不活性化手順の評価についての定量的アッセイ: トリ(ノブチル)ホスフェート、ナトリウムコレート、および β -プロピオラクトン [Quantitative assays for evaluation of HTLV-III inactivation procedures: Tri(n-butyl)phosphate, sodium cholate, and β -propiolactone], Cancer Research 45(1985), 4592a-4594a], β -プロピオラクトン + 紫外線 [Prince, A.M., Stephan, V., Dichtelmaier, H., Bretan, B., および Bulsa, T., β -プロピオラクトンおよび紫外線照射の組み合わせた使用による非A/非B型肝炎ウイルスのハチンソン菌株の不活性化 (Inactivation of the Hutchinson strain of non-A/non-B hepatitis virus by combined use of β -propiolactone and ultraviolet irradiation), J. med. Virol. 19(1985), 119-25], 消毒 + 洗浄剤 (前記 β -プロピオラクトンの文献を参照) または低温殺菌 (63℃において19時間) [Heldberger, H., Vornbachner, V., および Kump, G., 低温殺菌したインフラチニン不含因子-VIII調製物および調製方法, 欧州特許出願第 173 242 号 (1985)] を使用して実施した。表4は結果を示す。

表 4

IgM濃縮物中のウイルスの不活性化

タンパク質 (g/100ml)	ウイルス	減菌	不活性化 (log ₁₀ +)
4	$\Phi \times 174$	BPL	>7
4	$\Phi \times 174$	BPL+UV	?
0.5	センダイ	消毒 + 洗浄剤	>4.5
5	$\Phi \times 174$	低温殺菌	>8.0

結果は有効な減菌を示し、表4に記載する方

法の1つにより減菌したIgM濃縮物によるウイルスの伝達を防止することができる。

5. 貯蔵寿命の試験

本発明のIgM濃縮物を、1.5%の溶液 (1.2g/100 mlのIgM) の形態で57℃に4時間加熱した。それをバクテリアE.coli、クレブシエラ属 (Klebsiella)、および連鎖球菌属 (Streptococci) に対する抗体について、ネーテル (Neter) の受身赤血球凝集法 (PHA) [Neter, E., Bact. Rev. 29(1958), 198] により試験した。表5は加熱の前または後の活性を示す。

表 5

ペンタグロビン (Pentaglobin)^(*) と比較し

次の菌に対 する抗体	IgM ロビン	IgM ペンタグ ロビン	IgM ペンタグ ロビン
E.coli	640	160	160
Klebsiella	1280	640	320
Streptococci	320	160	
Strep. virid.	320	160	40

本発明によるIgM濃縮物は、したがって、決定の方法の誤差の限界 (± 1 力価段階) を設定してその免疫学的活性に関して熱安定性である。それは寿命に関して、商業的に入手可能なIgM含有調製物ペンタグロビン (Pentaglobin)^(*) と同様に挙動する。

特許出願人 ビオテスト ファルマ ゲゼルシャフト

ミット ペシレンクダー ハフツング

代理人 北村 歌 一 外 3 名



第1頁の続き

②発明者	ヘルベルト デイヒテ ルミューラー	ドイツ連邦共和国 デー - 6231	ズルツバウハ/デー- ス、ロセルトストラッセ 14
②発明者	ノルベルト コーテ	ドイツ連邦共和国 デー - 6242	クロンベルク フリー ドリツヒ-エベルト-ストラッセ 21
②発明者	データー ルドニク	ドイツ連邦共和国 デー - 6074	レーデルマルク ゲル リツツア ストラッセ 16
②発明者	デトレフ ビエチャク ツエグ	ドイツ連邦共和国 デー - 6115	ミューンスタールグム ステツター ストラッセ 54

手続補正

平成 年 月 日
1993 10 31

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

平成1年特許願第192814号

2. 発明の名称

L-8を含有する静脈内投与のポリクロール
免疫グロブリン製剤およびその製法

3. 補正をする者

事件との関連 特許出願人
バイオテスト ファルマ ゲゼルシャフト
ミット ベシュレンクター ハフツング

4. 代理人

東京都港区新橋2丁目18番1 1-552-703
8001 井理士 北 材 欣

電話 593-7811(代)

5. 補正命令の日付(自発)

平成 年 月 日



6. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄および発明の詳細な説明の欄

7. 補正の内容

1. 明細書の特許請求の範囲の欄を添付用紙の通り訂正する。
2. 同書第13頁第6行目の「含有した。」を「含有した。全体の免疫グロブリン含量は99%であった。」と訂正する。
3. 同書第13頁第18行目の「炭酸ナトリウム」を「塩化ナトリウム」と訂正する。
4. 同書第17頁第2行目、第19頁第5行目ないし同頁第6行目の各「Dichteisüller、」をそれぞれ「Dichteisüller、」と訂正する。
5. 同書第19頁第12行目の「phosphat、」を「phosphate、」と訂正する。
6. 同書第19頁第15行目ないし同頁第16行目の「Dichteisüller、」を「Dichteisüller、」と訂正する。
7. 同書第20頁第6行目の「Vornsbacher、」

を「Vorsorbücher、」と訂正する。

2. 特許請求の範囲

1. バクテリアの感染の処置および予防のための
静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物であって、

イ) 免疫グロブリンの調製の合計含量に基づいて少なくとも30重量%のIgMを含有し、

ロ) 低い抗補体活性を示し、

ハ) 水溶液中で安定であり、

ニ) ウイルスを含有しない、

ことを特徴とする静脈内投与のポリクローナル免疫グロブリン調製物。

2. いく種類かのモノクローナルIgM抗体の混合物から成ることを特徴とする、上記第1項記載の免疫グロブリン調製物。

3. また、1種または2種以上のモノクローナルIgM抗体を含有することを特徴とする、上記第1または2項記載の免疫グロブリン調製物。

4. また、追加のタンパク質、好ましくはヒトアルブミン、糖、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を含有することを特徴とする、

上記第1～3項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物。

5. 1～20g/100ml、好ましくは3～5g/100mlのタンパク質濃度をもつ溶液の形態であることを特徴とする、上記第1～4項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物。

6. ヒト、動物、またはバクテリア起源の免疫グロブリン含有血漿分画から分離することを経験する、上記第1～4項のいずれかに記載の免疫グロブリン調製物を調製する方法。

7. 免疫グロブリン含有分画をアニオン交換体で処理し、これを生理的塩類溶液またはpH配地で溶離し、溶出液をゲル濾過し、アニオン交換クロマトグラフィーまたはゲル濾過の前または後に、 β -プロピオラクトンおよびPEG400で処理し、そして必要に応じて加熱することを特徴とする、上記第5項記載の方法。

8. アニオン交換体は、DEAE-トリシアクリル (Triacryl) -LS、QA-トリシアクリル (Trisacryl) またはQHA-アセセル (Acenell) であるこ

とを特徴とする、上記第7項記載の方法。

9. ゲル濾過のためのゲルはセファクリル (Sephacryl) S400HRまたはS300HRであることを特徴とする、上記第7または8項記載の方法。

10. 調製物を、アニオン交換クロマトグラフィーまたはゲル濾過の前または後に、 β -プロピオラクトンで、あるいは β -プロピオラクトンおよび紫外線で、および0～10℃、好ましくは5℃、およびpH 4.5～5において3%のPEG400で、処理することを特徴とする、上記第7～9項のいずれかに記載の方法。

11. 加熱を 0.5～5時間、40～60℃において、好ましくは1時間、57℃において実施することを特徴とする、上記第7～10項のいずれかに記載の方法。

12. 調製物を、ゲル濾過の前または後に、溶媒および洗浄剤、好ましくはトリ-*n*-ブチルホスフェートおよびツイーン (Tween) 80で処理することを特徴とする、上記第7～11項のいずれかに記載の方法。

13. 調製物を、ゲル通過の前または後に、低温殺菌することを経験とする、上記第7～11項のいずれかに記載の方法。

14. タンパク質、好ましくはヒトアルブミン、糖、好ましくはマルトース、またはアミノ酸の混合物を調製物に添加することを経験とする、上記第7～11項のいずれかに記載の方法。